



بررسی تاثیر فلاونوئید کاتچین بر ساختار پروتئین گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع ۲b در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)

The effect of Catechin as a flavonoid on the fibroblast growth factor receptor ۲b in vitro



علوم پزشکی قزوین



منابع



اطلاعات تفصیلی



مجری و همکاران



صفحه نخست سامانه

چاپ صفحه

مجریان: حسین پیری ، سجاد اصل فلاح

کلمات کلیدی: عامل رشد فیبروبلاست، بیان پروتئین، کاتچین



اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۱۷۹۳
عنوان فارسی طرح	بررسی تاثیر فلاونوئید کاتچین بر ساختار پروتئین گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع ۲b در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)
عنوان لاتین طرح	The effect of Catechin as a flavonoid on the fibroblast growth factor receptor ۲b in vitro
کلمات کلیدی	عامل رشد فیبروبلاست، بیان پروتئین، کاتچین
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۳۶۵

ضرورت انجام تحقیق

در دهه های اخیر محبوبیت طب مکمل به طور روز افزون در حال افزایش بوده است. تلاش برای تایید استفاده از گیاهان و فراورده های گیاهی در پیشگیری، کنترل و درمان بیماری ها باعث افزایش تحقیقات در آزمایشگاه ها و برخی موارد در محیط بدن شده است. کاتچین ها از دسته ی پلی فنول ها هستند. گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست (FGFR) در مسیر پیام رسانی سلول نقش کلیدی در تنظیم فرایندهای زیستی از جمله تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز سلولی ایفا می کنند. بنابراین باتوجه به طیف وسیعی از اثرات فلاونوئیدها در فرایندهای چرخه سلولی و آپوپتوز و ایمن تر بودن این دسته از ترکیبات و کمتر بودن عوارض جانبی احتمالی این دسته از ترکیبات طبیعی، برای کشف مکانیسم مولکولی دقیق تاثیرات کاتچین در فرایندهای پاتولوژیکی مانند سرطان این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه های مولکولی تاثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین FGFR_{2b} به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است.

هدف کلی

بررسی max و min غلظت اثر کاتچین از خانواده فلاونوئیدها بر ساختار ناحیه کینازی رسپتور فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع دوم.

خلاصه روش کار

۱- ترانسفورماسیون پلاسمید نوترکیب به داخل E.coli . ۲- بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب ۳- fgfr_{2b}-تعیین اثر کاتچین بر روی ساختار سوم پروتئین تخلیص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوریمتری.



اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
حسین پیری	استاد راهنمای اول		دکتر - PHD	hosseinpiry@gmail.com
سجاد اصل فلاح	مجری	اجراء طرح	پزشک عمومی	aslefallahsajadv5@gmail.com



اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه های مولکولی تاثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین FGFR _{2b} به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است. پلاسمید نوترکیب حامل ژن مورد نظر به داخل E.coli (DE ₃) BL ₂₁ ترانسفورم شده و تحت بیان قرار می گیرد. جهت بیان ژن مورد نظر از IPTG استفاده می گردد. اندازه گیری شدت فلوروسانس ذاتی توسط دستگاه اسپکتروفلوئومتر صورت خواهد گرفت. پروتئین با غلظت مشخص در بافر فسفات تهیه می شود. محلول پروتئین در حضور و عدم حضور لیگاندهای متفاوت در هر آزمایش توسط طول موج ۲۸۰ نانومتر تحریک و طول موج نشری ثبت می شود. برای تهیه طیف فلوروسانس پروتئین، ابتداء لیگاند با پروتئین در محلول بافری به مدت ده دقیقه تیمار می شود. این عمل با غلظت های متفاوت لیگاندها در غلظت ثابت پروتئین صورت خواهد گرفت
پیشینه طرح	در مطالعه ای بر روی کاتچین آزمایش کردند و به این نتیجه رسیدند که نارنچین باعث کاهش سلول های توموری پستان می شود و همچنین در تکثیر سلول، تهاجم و بقا نقش دارد. پس کاتچین به طور قابل توجهی دوام و تکثیر، تهاجم و شکل گیری سلول های توموری را کاهش می دهد (۲۷). در مطالعه ای گزارش شده است که کاتچین می تواند فعالیت MAPK مسیر پیام رسانی را توسط گلوکز بالا در سلول های قلبی تغییر دهد (۲۸). مطالعات نشان داده اند که در درمان سرطان هایی که مکانیسم بوجود

آورنده‌ی آن‌ها اختلال در مسیر پیام‌رسانی سلول به واسطه‌ی گیرنده‌های فاکتور رشد فیبروبلاستی است، استفاده هم‌زمان از فلاونوئیدها از جمله کاتچین در کنار مهار کننده‌های کینازی اثر بخش است. با این وجود مطالعات بیشتری با استفاده از روش‌های دیگر، برای کشف مکانیسم مولکولی دقیق تأثیرات کاتچین در سرطان نیاز است که این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه‌های مولکولی تأثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین **FGFR2b** به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است.

فهرست کلی فصول	مقدمه و بیان مساله بررسی متون اهداف و فرضیات روش کار متغیرها هزینه ها فهرست مراجع
هدف از اجرا	بررسی max و min غلظت اثر کاتچین از خانواده فلاونوئیدها بر ساختار ناحیه کینازی رسپتور فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع دوم.
فرضیات یا سوالات پژوهشی	ساختار پروتئین FGFR2b در برهمکنش با کاتچین تغییر می کند.
چه موسساتی می‌توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	دانشگاههای علوم پزشکی و موسسات پژوهشی مرتبط با صنایع دارویی
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	
کلید واژه های فارسی	عامل رشد فیبروبلاست، بیان پروتئین، کاتچین
روش پژوهش و تکنیک‌های اجرایی	پلاسمید نوترکیب حامل ژن مورد نظر به داخل E.coli (DE3) BL21 ترانسفورم شده و تحت بیان قرار می گیرد. جهت بیان ژن مورد نظر از IPTG استفاده می گردد. در تمام آزمایشات مربوط به کلونینگ و بیان ژن، میزبان حامل پلاسمید نوترکیب در محیط LB آگار یا LB براث کشت داده می شود. از آمپی سیلین جهت انتخاب کلونی های باکتری حامل پلاسمید های نوترکیب استفاده می شود. پس از انکوباسیون لازم جهت القاء، سلولها با استفاده از سانتریفیوژ جمع آوری گردیده و به کمک سونیکاتور لیز می گردند. لیزات سلولی حاصل سانتریفیوژ شده و عصاره صاف شده بدست آمده با استفاده از آمونیوم سولفات تغلیظ می گردد. عصاره تغلیظ شده با استفاده از بافر مناسب تحت دیالیز قرار می گیرد و در ادامه جهت تخلیص مورد استفاده قرار می گیرد. برای تخلیص، از ستون کروماتوگرافی تعویض یون استفاده می گردد. جهت جداسازی پروتئین مورد نظر (محصول بیان شده) از گرادیان NaCl در بافر مناسب استفاده می گردد. فرکشن های حاوی پروتئین مورد نظر در مقابل بافر مناسب دیالیز گردیده و جمع آوری می گردد. در ادامه، محصول بدست آمده در مرحله قبل مجدداً با استفاده از کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون تخلیص می گردد. فرکشن های حاوی محصول بیان شده، جمع آوری شده و با استفاده از دیالیز در بافر مناسب قرار می گیرد. در ادامه، محصول بدست آمده تغلیظ گردیده و یک نمونه از آن جهت ارزیابی خلوص نمونه با استفاده از SDS-PAGE آزمایش می گردد. از رنگ کوماسی بریلیانت بلو جهت ظاهرسازی پروتئین ها در محیط PAGE استفاده می شود و پروتئین های جداسازی شده بر اساس Size در مقایسه با استاندارد مشخص می گردند. پس از اینکه به مقدار کافی پروتئین تولید شد برهمکنش زیر واحدهای آن با همدیگر با SDS PAGE و همچنین با کاتچین توسط دستگاه اسپکتروفلوئومتری بررسی می شود. فلوئورسانس ذاتی: اندازه‌گیری شدت فلوئورسانس ذاتی توسط دستگاه اسپکتروفلوئومتر صورت خواهد گرفت. پروتئین با غلظت مشخص در بافر فسفات تهیه می شود. محلول پروتئین در حضور و عدم حضور لیگاندهای متفاوت در هر آزمایش توسط طول موج ۲۸۰ نانومتر تحریک و طول موج نشری ثبت می شود. برای تهیه طیف فلوئورسانس پروتئین، ابتداء لیگاند با پروتئین در محلول بافری به مدت ده دقیقه تیمار می شود. این عمل با غلظت های متفاوت لیگاندها در غلظت ثابت پروتئین صورت خواهد گرفت. (۳۴,۳۴)

در مطالعه ای بر روی کاتچین آزمایش کردند و به این نتیجه رسیدند که نارنجین باعث کاهش سلول های توموری پستان می شود و

دلایل ضرورت و توجیه انجام کار

همچنین در تکثیر سلول، تهاجم و بقا نقش دارد. پس کاتچین به طور قابل توجهی دوام و تکثیر، تهاجم و شکل گیری سلول های توموری را کاهش می دهد(۲۷). در مطالعه ای گزارش شده است که کاتچین می تواند فعالیت MAPK مسیر پیام رسانی را توسط گلوکز بالا در سلول های قلبی تغییر دهد (۲۸). مطالعات نشان داده اند که در درمان سرطان هایی که مکانیسم بوجود آورنده آن ها اختلال در مسیر پیام رسانی سلول به واسطه ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی است، استفاده هم زمان از فلاونوئیدها از جمله کاتچین در کنار مهار کننده های کینازی اثر بخش است. با این وجود مطالعات بیشتری با استفاده از روش های دیگر، برای کشف مکانیسم مولکولی دقیق تاثیرات کاتچین در سرطان نیاز است که این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه های مولکولی تاثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین FGFR2b به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است.

کلید واژه های فارسی بازنگری شده

فهرست منابع و مراجع علمی داخلی

فهرست منابع و مراجع علمی خارجی

1. Matsunaga S, Okigaki M, Takeda M, Matsui A, Honsho S, Katsume A, et al. Endothelium-targeted overexpression of constitutively active FGF receptor induces cardioprotection in mice myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. ۲۰۰۹ May; ۴۶(۵):۶۶۳-۷۳.
2. Zhao WM, Wang L, Park H, Chhim S, Tanphanich M, Yashiro M, et al. Monoclonal antibodies to fibroblast growth factor receptor ۲ effectively inhibit growth of gastric tumor xenografts. *Clin Cancer Res*. ۲۰۱۰ December ۱; ۱۶(۲۳): ۵۷۵۰-۵۷۵۸.
3. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov*. ۲۰۰۹; ۸(۳):۲۳۵-۵۳.
4. Haugsten EM, Wiedlocha A, Olsnes S, Wesche Jr. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. *Mol Cancer Res*. ۲۰۱۰; ۸(۱۱):۱۴۳۹-۵۲.
5. Kalinina J, Dutta K, Ilghari D, Beenken A, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. The alternatively spliced acid box region plays a key role in FGF receptor autoinhibition. *Structure*. ۲۰۱۲; ۲۰(۱):۷۷-۸۸.
6. Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine & growth factor reviews*. ۲۰۰۵; ۱۶(۲):۱۳۹-۴۹.
7. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. ۲۰۰۹; ۸(۳):۲۳۵-۵۳.
8. Orr-Urtreger A, Bedford MT, Burakova T, Arman E, Zimmer Y, Yayon A, et al. Developmental localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-۲ (FGFR۲). *Developmental biology*. ۱۹۹۳; ۱۵۸(۲):۴۷۵-۸۶.
9. Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine & growth factor reviews*. ۲۰۰۵; ۱۶(۲):۱۷۹-۸۶.
10. Kan S-h, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al. Genomic screening of fibroblast growth-factor receptor ۲ reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis. *American journal of human genetics*. ۲۰۰۲; ۷۰(۲):۴۷۲-۸۶.
11. Dode C, Levilliers J, Dupont J-M, De Paepe A, Le De N, Soussi-Yanicostas N, et al. Loss-of-function mutations in FGFR۱

cause autosomal dominant Kallmann syndrome. *Nature genetics*. ۲۰۰۳;۳۳(۴):۴۶۳-۵. ۱۲.

Rohmann E, Brunner HG, Kayserili HI, Uyguner O, Nornberg G, Lew ED, et al. Mutations in different components of FGF signaling in LADD syndrome. *Nature genetics*. ۲۰۰۶;۳۸(۴):۴۱۴-۷. ۱۳.

Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. *Cell*. ۲۰۰۹;۱۳۶(۵):۸۲۳-۳۷. ۱۴.

Greenman C, Stephens P, Smith R, Dalgliesh GL, Hunter C, Bignell G, et al. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature*. ۲۰۰۷;۴۴۶(۷۱۳۲):۱۵۳-۸. ۱۵.

Ruhe JE, Streit S, Hart S, Wong C-H, Specht K, Knyazev P, et al. Genetic alterations in the tyrosine kinase transcriptome of human cancer cell lines. *Cancer research*. ۲۰۰۷;۶۷(۲۳):۱۱۳۶۸-۷۶. ۱۶.

Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Plotnikov AN, Yu K, Ornitz DM, Mohammadi M. Structural basis for fibroblast growth factor receptor γ activation in Apert syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. ۲۰۰۱;۹۸(۱۳):۷۱۸۲-۷. ۱۷.

Webster MK, Donoghue DJ. FGFR activation in skeletal disorders: too much of a good thing. *Trends in Genetics*. ۱۹۹۷;۱۳(۵):۱۷۸-۸۲. ۱۸.

Bcrsagell PL. Frequent translocation t(۴; ۱۴)(p۱۶. ۳; q۳۲. ۳) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor γ . *Nature genetics*. ۱۹۹۷;۱۶:۲۶۰-۴. ۱۹.

Meinander NQ, Jeppsson M, Sogaard M. Optimisation of the solubility of the recombinant Itk kinase domain in *Escherichia coli*. In: Merten OW, editor. *Recombinant Protein Production with Prokaryotic and Eukaryotic Cells – A Comparative View on Host Physiology*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; ۲۰۰۱. p. ۱۵۹-۷۰. ۲۰.

Chen H, Ma J, Li W, Eliseenkova AV, Xu C, Neubert TA, et al. A molecular brake in the kinase hinge region regulates the activity of receptor tyrosine kinases. *Molecular cell*. ۲۰۰۷;۲۷(۵):۷۱۷-۳۰. ۲۱.

Zankl A, Jaeger G, Bonafe ´ L, Boltshauser E, Superti-Furga A. Novel mutation in the tyrosine kinase domain of FGFR γ in a patient with Pfeiffer syndrome. *Am J Med Genet Part A*. ۲۰۰۴; ۱۳۱(۳):۲۹۹-۳۰. ۲۲.

J. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, vol. ۱, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, NY, USA, ۳rd edition, ۲۰۰۱. ۲۳.

David E Scheim. Cytotoxicity of unsaturated fatty acids in fresh human tumor explants: concentration thresholds and implications for clinical efficacy. *Lipids Health Dis*. ۲۰۰۹; ۸: ۵۴. ۲۴.

Kelly SM, Price NC. The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. *Curr Protein Pept Sci*. ۲۰۰۰ Dec; ۱(۴):۳۴۹-۸۴. ۲۵.

Xia Zhang, Lin Li, Zhenbo Xu, Zhili Liang, Jianyu Su, Jianrong Huang, et al. Investigation of the Interaction of Naringin Palmitate with Bovine Serum Albumin: Spectroscopic Analysis and Molecular Docking. *March* ۲۰۱۳, e۵۹۱۰۶. ۲۶.

Jana S, Chaudhuri TK, Deb JK. Effects of guanidine hydrochloride on the

conformation and enzyme activity of streptomycin adenylyltransferase monitored by circular dichroism and fluorescence spectroscopy. *Biochemistry (Mosc)*. ۲۰۰۶ Nov;۷۱(۱۱):۱۲۳۰-۷. Hongzhong Li, Bing Yang, Jing Huang, Tingxiu Xiang, Xuedong Yin, Jingyuan Wan, et al. Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting catenin signaling pathway. *Toxicology Letters* ۲۲۰ (۲۰۱۳) ۲۱۹-۲۲۸. Jingfu Chen, Runmin Guo, Hai Yan, Lihong Tian, Qiong You, Shanghai Li, et al. Naringin Inhibits ROS-activated MAPK Pathway in High Glucose-induced Injuries in H_{9c2} Cardiac Cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, ۲۰۱۴, ۱۱۴, ۲۹۳-۳۰۴. ۲۹. Mudgal V, Madaan N, Mudgal A, Mishra S. Dietary polyphenols and human health. *Asian Journal of Biochemistry* ۲۰۱۰, ۵ (۳), ۱۵۴-۶۲

خلاصه نتیجه اجرای طرح	مشخص شدن عوامل موثر در تغییر ساختار پروتئین فگفر ۲b می تواند در درمان برخی سرطان ها موثر باشد.
سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران	در مطالعه ای بر روی کاتچین ازمایش کردند وبه این نتیجه رسیدند که نارنجین باعث کاهش سلول های توموری پستان می شود و همچنین در تکثیر سلول، تهاجم و بقا نقش دارد. پس کاتچین به طور قابل توجهی دوام و تکثیر، تهاجم و شکل گیری سلول های توموری را کاهش می دهد(۲۷). در مطالعه ای گزارش شده است که کاتچین می تواند فعالیت MAPK مسیر پیام رسانی را توسط گلوکز بالا در سلول های قلبی تغییر دهد (۲۸). مطالعات نشان داده اند که در درمان سرطان هایی که مکانیسم بوجود آورنده آن ها اختلال در مسیر پیام رسانی سلول به واسطه ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی است، استفاده هم زمان از فلاونوئیدها از جمله کاتچین در کنار مهار کننده های کینازی اثر بخش است. با این وجود مطالعات بیشتری با استفاده از روش های دیگر، برای کشف مکانیسم مولکولی دقیق تاثیرات کاتچین در سرطان نیاز است که این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه های مولکولی تاثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین FGFR _{2b} به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است.
خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده	۱- ترانسفورماسیون پلاسمید نوترکیب به داخل E.coli. ۲- بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب ۳. fgfr _{2b} - تعیین اثر کاتچین برروی ساختار سوم پروتئین تخلیص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوریمتری.
WhatRequirementsAreMet	
ملاحظات گروه	
ملاحظات ناظر	
HomeAddress	
WorkPlace	
جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری	در این تحقیق از پروتئین نوترکیب FGFR _{2b} جهت انجام کلیه تیمارهای مربوط به فلاونوئیدها استفاده خواهد شد.
بیان مسأله وبررسی متون	در دهه های اخیر محبوبیت طب مکمل به طور روز افزون در حال افزایش بوده است. تلاش برای تایید استفاده از گیاهان و فراورده های گیاهی در پیشگیری، کنترل و درمان بیماری ها باعث افزایش تحقیقات در آزمایشگاه ها و برخی موارد در محیط بدن شده است. کاتچین ها از دسته ی پلی فنول ها هستند. در چای سبز به نسبت چای سیاه کاتچین ها به مقدار قابل ملاحظه ای یافت می شوند.

پلی فنول ها رایج ترین آنتی اکسیدان های مواد غذایی هستند و از طریق مهار رادیکال های آزاد نقش مهمی در پیشگیری از بیماری های مزمن از جمله سرطان دارند. از سوی دیگر می توان از تاثیر این ترکیبات بر سیگنالینگ درون سلولی نیز اشاره نمود. یکی از عوامل مهم در این مسیر انتقال علامت درون سلولی، فاکتور رشد فیبروبلاستی یا FGF می باشد که پروتئینی است که در بسیاری از فرایندهای سلولی نظیر تقسیم سلولی، تکوین جنین، رگ زایی و بسیاری فرایندهای دیگر نقش دارد. به علاوه، این پروتئین به عنوان یک فاکتور مهم به محیط کشت سلولهای بنیادی جنینی انسانی اضافه می شود تا بتوان سلول ها را در حالت بنیادینگی و بدون تمایز حفظ و تکثیر کرد. (۱) فاکتورهای رشد فیبروبلاستی در پستانداران شامل خانواده ای از ۱۸ عضو هستند (FGF) الی FGF۱۰ و FGF۱۶ الی (FGF۲۳) که از طریق چهار گیرنده تیروزین کینازی (FGFR۱ الی (FGFR۴ و ایزوفرم های آن ها ایجاد پیام می کنند تا رشد و نمو جنین و سوخت و ساز بدن بزرگسالان را تنظیم کنند. مشخص شده است که انتقال پیام کنترل نشده فاکتورهای رشد فیبروبلاستی می تواند منجر به بدخیمی در انسان شود. (۲) گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست (FGFR) در مسیر پیام رسانی سلول نقش کلیدی در تنظیم فرایندهای زیستی از جمله تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز سلولی ایفا می کنند. متابولیسم سلولی، ترمیم بافتی، رگ زایی و توسعه ی مراحل جنینی از جمله وظایفی هستند که در دوران جنینی و بزرگسالی در بدن توسط این گیرنده ها با اتصال به فاکتورهای رشد فیبروبلاستی (FGF) انجام می شود. (۵) فرم های موتاسیون یافته ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی در سرطان های متعددی از جمله سرطان ریه، پستان، معده، مغز، سر و گردن، پروستات، کولون، رحم، مثانه و هم چنین مولتیپل میلوما شناخته شده است. (ع۲) FGFR۲ نقش مهمی را در رشد و ترمیم بافتی دارد، بویژه استخوان و عروق خونی. (۱) پروتئین نوترکیب FGFR۲b متعلق به خانواده ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGFR) است. این پروتئین دارای ۳۳۴ اسید آمینه و وزن مولکولی تقریبی ۳۸ کیلودالتون می باشد. هفت گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی شامل FGFR۱b، FGFR۱c، FGFR۲c، FGFR۳b، FGFR۳c و FGFR۴ می باشد. (۳۷) گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی متعلق به خانواده ای از گیرنده های تیروزین کینازی هستند که همه ی آن ها دارای یک بخش داخل غشایی، یک ناحیه خارج سلولی متصل شونده به لیگاند و یک ناحیه داخل سلولی که خاصیت تیروزین کینازی دارد، هستند. (۲،۳) اتصال فاکتور رشد فیبروبلاستی به گیرنده خود باعث جفت شدن گیرنده و به دنبال آن فسفریلاسیون اسید آمینه تیروزین موجود در ناحیه کینازی می شود که متعاقب آن قسمت انتهایی کربوکسیل گیرنده فسفریله می شود و در نتیجه گیرنده فعال می گردد و پروتئین های داخل سلولی را فسفریله و فعال می کند و در نهایت شبکه ی انتقال پیام (سیگنالینگ) داخل سلولی را القاء می کنند که فرایندهای بیولوژیکی کلیدی مانند تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز را به طور دقیق تنظیم می کنند. (۲۵) تقریباً ۲۰٪ ژن های انسانی محصولاتی را کد می کنند که در مسیرهای پیام رسانی (سیگنالینگ) سلولی مشارکت دارند. تنظیم کننده اصلی این مسیرها از طریق واکنشهای فسفریلاسیون/دفسفریلاسیون عمل می نمایند. آنزیم های پروتئین کیناز مسئول فسفریلاسیون اسیدآمینه تیروزین روی پروتئین هدف خود هستند. فعال سازی کینازها از طریق ایجاد موتاسیون باعث فعالیت کینازی مداوم این آنزیم ها می شود، بنابراین به نظر می رسد که این پروتئین ها به عنوان یک هدف درمانی جالب برای درمان سرطان باشند. (۵) عدم تعادل در انتقال پیام (سیگنالینگ) FGFR با چندین اختلال پاتولوژیک انسانی مرتبط است مانند سندرم های اسکلتی از جمله سندرم Crouzon و سندرم Pfeiffer که به دلیل جهش در ناحیه کینازی پروتئین FGFR۲ ایجاد می شوند، سندرم kalmann که می توان آن را به جهش در FGFR۱ نسبت داد، سندرم LADD که به دلیل کاهش عملکرد در ناحیه کینازی FGFR۲ و FGFR۳ ایجاد می شود و نیز برخی از سرطان ها. (۱،۲۳،۲۵) جهش های افزایش عملکرد در پروتئین FGFR مسئول بیماریهای مختلف از جمله Craniosynostosis، سندرم Dwarfing، سندرم Abert، سندرم Antley-Bixer و برخی از سرطان هاست. جهش هایی که منجر به بیان بیش از اندازه و افزایش عملکرد FGFR۳ می شوند در مولتیپل میلوما رخ می دهد، همچنین یک موتاسیون نقطه ای در آن می تواند منجر به achondroplasia شود. FGFR۴ نیز به عنوان یک مارکر پیش آگهی از سرطان است. (۲۳،۲۵۷،۲) ژن FGFR۲b روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۰ انسان (۱۰q۲۶) قرار گرفته و دارای ۲۱ آگزون است. تغییرات ژنتیکی در این گیرنده با سرطان های

اندومتريال، تخمدان و پستان در ارتباط می باشد. (۲۳) قابل ذکر است که نوع جهش یافته این گیرنده در تعدادی از سرطان ها گزارش شده است که با افزایش پیام مرتبط با این گیرنده در ارتباط است. (۷،۴) در این پروتئین نوترکیب با انتقال الگوی موتاسیون مشاهده شده در گیرنده بیان شده در سلول سرطانی به نوع طبیعی پروتئین، فرم فعال و نوترکیب ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین **FGFR_{2b}** ایجاد شده است که دارای جهش های مورد نظر می باشد. قابل ذکر است که تهیه ی ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین **FGFR_{2b}** به صورت خالص این امکان را فراهم می کند که در مطالعات بعدی بتوان اطلاعاتی راجع به ساختار و نیز بررسی برهمکنش پروتئین و لیگاند از جمله اثر مهارکننده های مختلف را روی ناحیه ی کینازی این پروتئین به دست آورد. (۴،۲۳) بر این اساس در این تحقیق، تغییرات ساختاری پروتئین نوترکیب **FGFR_{2b}** بر اثر برهمکنش با فلاونوئید کاتچین بررسی می گردد. همانگونه که در بالا اشاره شد رادیکال های آزاد با حمله به غشای سیتوپلاسمی سلول و نابود کردن آن، به **DNA** داخل سلول دسترسی پیدا می کنند و از طریق تغییر **DNA** باعث سرطان می شوند. پلی فنول هایی مانند کاتچین علاوه بر نابود کردن رادیکال های آزاد با تسریع مرگ سلول های سرطانی از سلول های سالم نیز حفاظت می کنند. انواع کاتچین موجود در برگ چای مانند اپی کاتچین، اپی گالوکاتچین، اپی کاتچین گالات و اپی گالوکاتچین گالات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان کاربرد دارد. این آنتی اکسیدان تنها در چای سبز یافت می شود و در پروسه ی تهیه چای سیاه، کاتچین دستخوش اکسایش می شود و به تی فلاوین و تی روبیجین تبدیل می شود. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی اپی گالوکاتچین گالات نسبت به ویتامین **E** و **C** به ترتیب حدود ۱۰۰ و ۲۵ برابر بیشتر است. با توجه به ساختار شیمیایی گسترده ی انواع کاتچین ها، هرچه قدر تعداد گروه های هیدروکسیل (**OH**) بیشتر باشد توانایی آنتی اکسیدانی پلی فنول ها افزایش می یابد. در واقع آنتی اکسیدان ها سلول را در عوامل اکسند قوی مثل یونهای فلزی با تشکیل کمپلکس با آنها محافظت می کنند. خاصیت آنتی اکسیدانی چای سبز به دلیل غلظت بالاتر پلی فنول های غنی از هیدروکسیل ۵ برابر بیشتر است. به همین خاطر است که چای سبز را به عنوان داروی ضد پیری می شناسند. بنابراین باتوجه به طیف وسیعی از اثرات فلاونوئیدها در فرایندهای چرخه سلولی و آپوپتوز و ایمن تر بودن این دسته از ترکیبات و کمتر بودن عوارض جانبی احتمالی این دسته از ترکیبات طبیعی، برای کشف مکانیسم مولکولی دقیق تاثیرات کاتچین در فرایندهای پاتولوژیکی مانند سرطان این مطالعه به منظور آشکار نمودن بخشی از جنبه های مولکولی تاثیر فلاونوئیدهایی مانند کاتچین بر پروتئین **FGFR_{2b}** به عنوان عضوری از مسیر انتقال علامت سلولی طراحی گردیده است.



منابع

1. Matsunaga S, Okigaki M, Takeda M, Matsui A, Honsho S, Katsume A, et al. Endothelium-targeted overexpression of constitutively active FGF receptor induces cardioprotection in mice myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 2009 May; 46(5):663-73
2. Zhao WM, Wang L, Park H, Chhim S, Tanphanich M, Yashiro M, et al. Monoclonal antibodies to fibroblast growth factor receptor 2 effectively inhibit growth of gastric tumor xenografts. *Clin Cancer Res.* 2010 December 1; 16(23): 5750–5758
3. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8(3):235-53
4. Haugsten EM, Wiedlocha A, Olsnes S, Wesche Jr. Roles of fibroblast growth factor receptors in

- carcinogenesis. *Mol Cancer Res.* 2010; 8(11):1439-52
- Kalinina J, Dutta K, Ilghari D, Beenken A, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. The alternatively spliced acid .5
box region plays a key role in FGF receptor autoinhibition. *Structure.* 2012;20(1):77-88
- Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine & .6
.growth factor reviews.* 2005;16(2):139-49
- Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nature Reviews Drug .7
.Discovery.* 2009;8(3):235-53
- Orr-Urtreger A, Bedford MT, Burakova T, Arman E, Zimmer Y, Yayon A, et al. Developmental localization of .8
the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-2 (FGFR2). *Developmental biology.*
.1993;158(2):475-86
- Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine & growth factor reviews.* .9
.2005;16(2):179-86
- Kan S-h, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al. Genomic screening of .10
fibroblast growth-factor receptor 2 reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic
.craniosynostosis. *American journal of human genetics.* 2002;70(2):472-86
- Dode C, Levilliers J, Dupont J-M, De Paepe A, Le De N, Soussi-Yanicostas N, et al. Loss-offunction .11
.mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. *Nature genetics.* 2003;33(4):463-5
- Rohmann E, Brunner HG, Kayserili HI, Uyguner O, Nornberg G, Lew ED, et al. Mutations in different .12
.components of FGF signaling in LADD syndrome. *Nature genetics.* 2006;38(4):414-7
- Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. .13
.Cell. 2009;136(5):823-37
- Greenman C, Stephens P, Smith R, Dalgliesh GL, Hunter C, Bignell G, et al. Patterns of somatic mutation .14
.in human cancer genomes. *Nature.* 2007;446(7132):153-8
- Ruhe JE, Streit S, Hart S, Wong C-H, Specht K, Knyazev P, et al. Genetic alterations in the tyrosine .15
.kinase transcriptome of human cancer cell lines. *Cancer research*
.11368-76:(23)67;2007
- Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Plotnikov AN, Yu K, Ornitz DM, Mohammadi M. Structural basis for .16
fibroblast growth factor receptor 2 activation in Apert syndrome. *Proceedings of the National Academy of
.Sciences.* 2001;98(13):7182-7
- Webster MK, Donoghue DJ. FGFR activation in skeletal disorders: too much of a good thing. *Trends in .17
.Genetics.* 1997;13(5):178-82
- Bcragsagell PL. Frequent translocation t (4; 14)(p16. 3; q32. 3) in multiple myeloma is .18
associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor
.receptor 3. *Nature genetics.* 1997;16:260-4
- Meinander NQ, Jeppsson M, Sogaard M. Optimisation of the solubility of the recombinant Itk kinase .19

- domain in *Escherichia coli*. In: Merten OW, editor. *Recombinant Protein Production with Prokaryotic and Eukaryotic Cells - A Comparative View on Host Physiology*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; .2nd edition 2001. p. 159-70
- Chen H, Ma J, Li W, Eliseenkova AV, Xu C, Neubert TA, et al. A molecular brake in the kinase hinge .20 region regulates the activity of receptor tyrosine kinases. *Molecular cell*. 2007;27(5):717-30
- Zankl A, Jaeger G, Bonafe' L, Boltshauser E, Superti-Furga A. Novel mutation in the tyrosine kinase .21 domain of FGFR2 in a patient with Pfeiffer syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2004; 131(3):299-300
- J. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, vol. 1, Cold Spring Harbor .22 Laboratory, New York, NY, USA, 3rd edition, 2001
- David E Scheim. Cytotoxicity of unsaturated fatty acids in fresh human tumor explants: concentration .23 thresholds and implications for clinical efficacy. *Lipids Health Dis*. 2009; 8: 54
- Kelly SM, Price NC. The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. .24 *Curr Protein Pept Sci*. 2000 Dec;1(4):349-84
- Xia Zhang, Lin Li, Zhenbo Xu, Zhili Liang, Jianyu Su, Jianrong Huang, et al. Investigation of the .25 Interaction of Naringin Palmitate with Bovine Serum Albumin: Spectroscopic Analysis and Molecular Docking. March 2013, e59106
- Jana S, Chaudhuri TK, Deb JK. Effects of guanidine hydrochloride on the conformation and enzyme .26 activity of streptomycin adenylyltransferase monitored by circular dichroism and fluorescence spectroscopy. *Biochemistry (Mosc)*. 2006 Nov;71(11):1230-7
- Hongzhong Li, Bing Yang, Jing Huang, Tingxiu Xiang, Xuedong Yin, Jingyuan Wan, et al. Naringin .27 inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting catenin signaling pathway. *Toxicology Letters* 220 (2013) 219– 228
- Jingfu Chen, Runmin Guo, Hai Yan, Lihong Tian, Qiong You, Shanghai Li, et al. Naringin Inhibits ROS- .28 activated MAPK Pathway in High Glucose-induced Injuries in H9c2 Cardiac Cells. *Basic & Clinical .Pharmacology & Toxicology*, 2014, 114, 293–304
- Mudgal V, Madaan N, Mudgal A, Mishra S. Dietary polyphenols and human health. *Asian Journal of* .29 *Biochemistry* 2010, 5 (3), 154-62
-